

УДК: 636.2:619:612.015.3

Сімонов М. Р., к.вет.н, с.н.с. (msimonov@inenbiol.com.ua) ©

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ ЗА УМОВИ КЕТОЗУ

Одним із захворювань, що представляють значну перешкоду у збільшенні молочної продуктивності, є кетоз молочних корів. У даній роботі представлений аналіз змін, що відбуваються у активності ензимів сироватки крові хворих на кетоз корів. Дослідження проводились на високопродуктивних молочних коровах, другої – шостої лактації, продуктивністю 5200 – 8300 л молока за лактацію, які утримуються в господарствах шести областей України. Проведені дослідження показали, що у значної частини корів, хворих на кетоз, захворювання ускладнюється патологією печінки, що в свою чергу веде до вірогідного зростання у сироватці крові активності аланінової (у 29,2 % тварин), аспарагінової (у 85,4 %) трансфераз, γ -глутамілтрансферази (у 87,5 %), лужної фосфатази (у 70,8 %) та лактатдегідрогенази (у 78,3 %). При цьому, активність холінестерази у корів, хворих на кетоз, знижена (у 82,2 %). Накопичення кетонових тіл може викликати як гіпо-, так і гіперамілаземію.

Ключові слова: корови, кетоз, ензими, аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза, γ -глутамілтрансфераза, лужна фосфатаза, лактатдегідрогеназа, α -амілаза, холінестераза.

Вступ. Ріст і розвиток тварин, їх продуктивність та здоров'я визначається рівнем функціонування обміну речовин. Під час переходу від тільності до лактації в організмі корови за декілька днів відбуваються кардинальні зміни метаболізму. Три тижні перед отеленням та три тижні після родів є коротким, але дуже важливим відрізком часу в житті корови, від якого залежить здоров'я і продуктивність в наступну лактацію та збереженість поголів'я в цілому [1, 2]. В останні три тижні тільності витрати поживних речовин на ріст плода, збільшення плаценти і молочної залози максимальні. На початку лактації для синтезу молока необхідно значно більше поживних речовин, ніж вони можуть спожити. Якщо в організм корови надходить недостатня кількість енергії та поживних речовин з кормами, то використовуються внутрішні резерви [3, 4]. В цей час виникає одна з найважливіших проблем в сучасному веденні тваринництва багатьох країн – метаболічні захворювання [5]. Одним із таких захворювань, що представляють значну перешкоду у збільшенні молочної продуктивності, є кетоз. Вивчення змін, що відбуваються у активності ензимів крові, дасть можливість отримати уявлення про суть метаболічного дисбалансу. Це надасть такому підходу велике діагностичне і прогностичне значення. Виходячи з цього, метою нашої роботи було дослідити та порівняти активність аланінової, аспарагінової трансфераз, γ -

глутамілтрансферази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази, α -амілази та холінестерази у сироватці крові здорових та хворих на кетоз молочних корів.

Матеріали і методи. Дослідження проводили в кінці зимово-стійлового періоду на високопродуктивних молочних коровах ($n=104$), другої – шостої лактації, продуктивністю 5200 – 8300 л молока за лактацію, які утримуються в господарствах шести областей України (Львівська, Волинська, Рівненська, Хмельницька, Вінницька, Кіровоградська). Через 2 – 3 тижні після отелення проводили клінічний огляд корів та за допомогою індикаторних смужок (Ketophan, Pliva) визначали вміст кетонових тіл у сечі. При огляді тварин було встановлено, що частина тварин ($n=48$) більше лежить, у них швидко знизилась жива маса тіла та надій, вони мали пригнічений вигляд, у деяких реєструвалося м'язове тремтіння. При контакті індикаторних смужок із сечею забарвлення змінилось на фіолетове, що свідчить про наявність у сечі кетонових тіл. Тварин з позитивним результатом на вміст кетонових тіл у сечі виділяли у окрему групу. Проби крові відбирали із яремної вени перед ранішньою годівлею у стерильні пробірки. У сироватці крові визначали активність аланінової, аспарагінової трансфераз, γ -глутамілтрансферази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази, α -амілази та холінестерази за допомогою біохімічного аналізатора типу Humalyzer 2000 (Німеччина).

Одержані дані опрацьовували на комп'ютері в програмі Excel, визначаючи середню арифметичну величину (M), статистичну помилку середньої арифметичної величини (m) та вірогідність різниці між середніми арифметичними двох варіаційних рядів ($p<$).

Результати дослідження.

Проведені нами дослідження показали (табл.), що активність ензимів у сироватці крові хворих на кетоз корів, порівняно зі здоровими суттєво відрізняється. Зокрема, активність аланінової (АЛТ) та аспарагінової трансфераз (АСТ) є вірогідно ($p<0,001$) вищою (на 22,1 % та 60,2 % відповідно). При цьому у 29 % досліджених хворих корів активність АЛТ перевищувала верхню межу фізіологічних коливань, а АСТ – у 85,4 %. Такі зміни свідчать про те, що у значної частини хворих на кетоз корів відбуваються деструктивні зміни у печінці, які спричиняють збільшення виходу трансаміназ з клітинних органел у кров. Це підтверджується дослідженням коефіцієнту де Рітиса, який зріс із $1,7\pm 0,14$ у здорових корів до $3,5\pm 0,20$ ($p<0,001$) у тварин з ознаками кетозу. Найбільш часто кетоз високопродуктивних корів супроводжуються жировою дистрофією печінки [6]. Даний процес описаний як ліпомобілізаційний синдром. Якщо корова споживає недостатню кількість корму, організм звертається до своїх внутрішніх запасів і в першу чергу використовує жири тіла, які розщеплюються до вільних жирних кислот. З кров'ю вільні жирні кислоти попадають в печінку і м'язи, де використовуються в якості джерела енергії. У випадку, якщо недостатньо пропіонатів, які синтезуються в рубці з легкоперетравних вуглеводів, жирні кислоти розщеплюються до кетонових тіл (ацетон, β -оксималяна та ацетооцтова кислоти) і виникає кетоз, або ліпіди відкладаються у печінці і розвивається жирова дистрофія печінки [7 – 9]. При

розвитку жирової дистрофії печінки у корів зростання активності АСТ виникає вже при ультрамікроскопічних змінах органа, коли активність інших ферментів ще мало змінюється, що свідчить про суттєве діагностичне значення визначення активності даного ензиму.

Таблиця

Активність ензимів у сироватці крові корів

Назва	Показник	Здорові	Хворі	p □
аланінова трансфераза, од/л	M±m	21,1±0,64	27,1±0,92	0,001
	Lim	6,7 – 31,2	17,5 – 41,8	
	n=	56	48	
	< норми, % тварин	3,6	0	
	> норми, % тварин	3,6	29,2	
аспарагінова трансфераза, од/л	M±m	36,5±2,94	91,8±5,14	0,001
	Lim	14,9 – 109,9	31,5 – 202,4	
	n=	56	48	
	< норми, % тварин	0	0	
	> норми, % тварин	7,2	85,4	
γ-глутаміл- трансфераза, од/л	M±m	12,8±0,88	27,2±2,21	0,001
	Lim	6,6 – 46,3	12,7 – 81,72	
	n=	56	48	
	< норми, % тварин	1,8	0	
	> норми, % тварин	10,7	87,5	
лужна фосфатаза, од/л	M±m	174,7±5,87	246,4±11,49	0,001
	Lim	27,0 – 278,7	99,4 – 405,0	
	n=	54	48	
	< норми, % тварин	3,7	2,1	
	> норми, % тварин	18,5	70,8	
α-амілаза, од/л	M±m	21,6±1,11	45,8±3,50	0,001
	Lim	4,0 – 40,2	6,5 – 90,8	
	n=	52	47	
	< норми, % тварин	5,8	10,6	
	> норми, % тварин	1,9	55,3	
лактат- дегідрогеназа, од/л	M±m	1187,5±34,66	2185,2±96,26	0,001
	Lim	651,0 – 1635,0	985,0 – 3356,0	
	n=	55	46	
	< норми, % тварин	0	0	
	> норми, % тварин	9,1	78,3	
холінестераза, од/л	M±m	70,9±1,90	41,6±4,63	0,001
	Lim	47,8 – 110,4	22,5 – 75,2	
	n=	53	45	
	< норми, % тварин	1,9	82,2	
	> норми, % тварин	3,8	0	

Крім аланінової та аспарагінової трансфераз нами було встановлено, також, зростання активності γ-глутамілтрансферази (ГГТ) у сироватці крові більш ніж 87 % хворих на кетоз корів, що може свідчити про застійні явища у гепатобіліарній системі. ГГТ каталізує перенесення глутамілового залишку та гаммаглутамілпептиду на акцепторний пептид чи на альфа-амінокислоту. Фермент має найвищу активність у нирках, печінці, особливо в клітинах, які формують ниркові каналці та жовчні протоки, а також у підшлунковій залозі [8, 9].

При проведенні лабораторних досліджень було встановлено вірогідне зростання (на 29,1 %; $p < 0,001$; табл.) активності лужної фосфатази у сироватці крові хворих на кетоз корів. Причиною зростання даного ензиму може бути розвиток вторинної остеодистрофії у хворих тварин. Гіпокальціємія в організмі хворих на кетоз корів могла виникнути внаслідок порушення обміну вітаміну D при патології органів, які беруть участь у його метаболізмі (печінка, нирки) [10]. Крім цього, зниження вмісту загального кальцію у корів, хворих на кетоз, виникає внаслідок активації компенсаторних реакцій організму, які спрямовані на зменшення кислих продуктів метаболізму. Таким чином, проходить зв'язування катіонів (Ca, P) кислотами і подальше їх виведення з сечею у вигляді органічних кислот, гідрофосфатів, фосфату кальцію [11].

Альфа-амілаза (α -амілаза) каталізує ендогідроліз 1,4-глюкозидних зв'язків крохмалю, глікогену та інших споріднених з ними полісахаридів до мальтози, декстринів чи інших полімерів. Альфа-амілаза секретується підшлунковою та слинними залозами; невисока її активність спостерігається в печінці та скелетних м'язах [1, 12]. Як видно з наведених у таблиці даних, у сироватці крові хворих на кетоз корів, активність α -амілази коливається в досить широких межах за середньої величини $45,8 \pm 3,50$ од/л, що є на 52,8 % ($p < 0,001$) вище, порівняно із клінічно здоровими тваринами. Слід зауважити, що у окремих тварин даної групи реєструється гіпоамілаземія, тоді як у інших гіперамілаземія, тому пояснити такі зміни однозначно є досить важко. Найчастіше підвищення активності амілази в сироватці крові та сечі спостерігається при пошкодженні слинних та підшлункової залоз. Меншою мірою зростання активності альфа-амілази реєструється при виразках шлунково-кишкового тракту, хімостазі, дистрофії печінки, гепатиті, жовчнокам'яній хворобі. При патології нирок активність ферменту може зростати у крові, а в сечі – знижуватися. Також гіперамілаземію викликають ряд лікарських препаратів (кортикостероїди, саліцилати, тетрациклін, фуросемід, гістамін) [1, 12]. Зниження активності альфа-амілази у сироватці крові може реєструватись при порушенні вуглеводної функції печінки.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує реакцію перетворення піровиноградної кислоти у молочну за участі NAD⁺. Існує 5 різних фракцій лактатдегідрогенази [1, 7]. В даній роботі ми визначали активність загальної лактатдегідрогенази. Як видно з представлених результатів (табл.) у сироватці крові хворих на кетоз корів активність даного ензиму зросла на 45,7 % ($p < 0,001$). Органоспецифічність лактатдегідрогенази порівняно невелика, що ускладнює інтерпретацію випадків гиперензимемії. Слід мати на увазі, що збільшення активності лактатдегідрогенази в сироватці крові означає, що в якомусь органі сталося пошкодження клітин, змінилася проникність клітинних мембран, внаслідок чого ензим у великих кількостях потрапив у кров [13]. Враховуючи комплекс із клінічних та лабораторних результатів досліджень можна з високою долею вірогідності припустити, що зростання активності лактатдегідрогенази відбулось у першу чергу за рахунок деструктивних змін у печінці.

Як видно із наведених у таблиці результатів досліджень, у сироватці крові хворих на кетоз молочних корів активність холінестерази вірогідно

знизилась на 41,3 % ($p < 0,001$), порівняно із клінічно здоровими тваринами. При цьому, у 82 % тварин з ознаками кетозу активність даного ензиму у сироватці крові є нижче межі фізіологічних коливань. Холінестераза це – секреторний ензим, який активує реакцію розщеплення ефірів холіну (ацетилхолін та бутирилхолін) до холіну та оцтової чи масляної кислот. Вона зустрічається майже у всіх тканинах, але особливо висока її активність виявляється у плазмі крові, печінці та підшлунковій залозі. Діагностична значимість холінестерази сироватки крові визначається тим, що вона синтезується клітинами печінки і функціонує в крові [1, 2, 7]. Тому, при пошкодженнях печінки активність її в сироватці крові знижується. Особливо характерне зниження активності ферменту при отруєнні фосфорорганічними сполуками. З цієї ж причини гіпохолінестераземія спостерігається при нестачі білка в раціоні, кахексії та інших патологічних станах, що викликають зниження білоксинтезувальної функції печінки [14, 15]. Одужання супроводжується нормалізацією активності ензиму в сироватці крові.

Висновки. У значної частини корів, хворих на кетоз, захворювання ускладнюється патологією печінки, що в сою чергу веде до вірогідного зростання у сироватці крові активності аланінової (у 29,2 % тварин), аспарагінової (у 85,4 %) трансфераз, γ -глутамілтрансферази (у 87,5 %), лужної фосфатази (у 70,8 %) та лактатдегідрогенази (у 78,3 %). При цьому, активність холінестерази у корів, хворих на кетоз, знижена (у 82,2 %). Накопичення кетонових тіл може викликати як гіпо-, так і гіперамілаземію.

Література

1. Левченко В. І. Ветеринарна клінічна біохімія / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін.; За ред. В. І. Левченка і В. Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
2. Walsh R. B. The Effect of Subclinical Ketosis in Early Lactation on Reproductive Performance of Postpartum Dairy Cows / R. B. Walsh, J. S. Walton, D. F. Kelton et al // J. Dairy Sci. – 2007. – № 90. – P. 2788 – 2796.
3. Левченко В. І. Кетоз високопродуктивних корів: етіологія і діагностика / В. І. Левченко, В. В. Сахнюк // Ветеринарна медицина України. – 2002. – №2. – С.18
4. Goldhawk C. Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis / C. Goldhawk, N. Chapinal, D. M. Veira and al // J. Dairy Sci. – 2009. – № 92. – P. 4971 – 4917.
5. Dirksen G. Innere Medizin und Chirurgie des Rinders / G. Dirksen, H.- D. Grunder, M. Stöber (Hrsg.). – Berlin: Parey, 2002. – 1283 s.
6. Влізло В. В. Патогенетичні механізми виникнення кетозу у лактуючих корів / В. В. Влізло, Г. Готтер, В. Баумгартнер // Вет. медицина. Міжвід. темат. наук. збірник. – К.: Аграрна наука, 1997. – Вип.71. – С.56-60.
7. Левченко В. І. Внутрішні хвороби тварин / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін.; За ред. В. І. Левченка. – Біла Церква, 2001. – Ч. 2. – 544 с.
8. Влізло В. В. Жировий гепатоз у високопродуктивних корів: Автореф. дис.... док.вет.наук. – К., 1998. – 34 с.

9. Stojević Z. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period / Z. Stojević, J. Piršljin, Milinković-Tur S., et al // Veterinarski arhiv. – 2005. – 75 (1). – P. 67-73.

10. Влізло В. В. Показники мінерального обміну у корів, хворих на кетоз / В. В. Влізло, М. Р. Сімонов, І. М. Петрух // Вет. Мед. Міжвід. темат. наук. збірник. – Харків. 2010. – Вип. 94. – С. 220 – 221.

11. Влізло В. В. Стан кислотно-основного балансу в корів, хворих на кетоз / В. В. Влізло, М. І. Суходольська // Вісник БДАУ. – Вип. 25. – Ч2. – Біла Церква, 2004. – С.24 - 27.

12. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / И.П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко и др.; под ред. И. П. Кондрахина. – М.: Колос, 2004. – 520 с.

13. Rezaeisaber A. BHBA, NEFA and LDH have changed in fatty liver syndrome: An Abattoir-based study / A. Rezaeisaber, D. Abdili, F. Noii et al // European Journal of Experimental Biology. – 2013. – 3(1). – P. 572-575.

14. Askar K. A. Comparative analysis of cholinesterase activities in food animals using modified Ellman and Michel assays / K. A. Askar, A. C. Kudi, A. J. Moody // J. Vet Res. – 2011. – 75(4). – P. 261-270.

15. Mohammad F. K. Blood Cholinesterase Activities in Cattle, Sheep and Goats Measured by a Modified Electrometric Method / F. K. Mohammad, G. A. Faris, A. S. Alias et al // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2005. – 4. P. 923-926.

Summary

Simonov M. R.

Institute of animal biology of NAAS, Ukraine, Lviv

CHANGES OF SERUM ENZYME ACTIVITY IN HIGH-YIELD DAIRY COWS UNDER KETOSIS

Ketosis of cattle is one of the diseases, which present a major obstacle to the increase of milk productivity. The present paper contains analysis of changes in serum enzymes activity in ketotic cows. The study was conducted in high-yield dairy cows in their second to sixth lactation giving a yield of approximately 5200 – 8300 l of milk per lactation. Cows were kept in farms in six regions of Ukraine. Performed research shows that in substantial part of animals, affected with ketosis, disease is complicated with hepatic impairment, which in its turn leads to significant increase in serum activities of alanine (29.2% of animals) and asparagine transferases (in 82,4%), γ -glutamyl transferase (in 87.5%), alkaline phosphatase (in 70.8%) and lactate dehydrogenase (in 78.3%). Herewith, activity of cholinesterase in ketotic cows is decreased (in 82,2% of animals). Accumulation of ketone bodies may cause both hypo- and hyperamylasemia.

Рецензент – д.вет.н., професор Слівінська Л.Г.